

ARTÍCULO ORIGINAL

## Caracterización de aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidos de individuos positivos para HIV en Colombia, 2012

Claudia Castro, Alba Ricardo, Angie Zabaleta, Claudia Llerena, Gloria Puerto

Laboratorio de Micobacterias, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Una tercera parte de los casos nuevos de tuberculosis se atribuye a la propagación del HIV. En 2012, se presentaron en Colombia 1.397 casos de tuberculosis concomitante con la infección por HIV, es decir, 11,8 % del total de notificados. El uso de las herramientas de epidemiología molecular contribuye a una mejor comprensión de la transmisión de la enfermedad.

**Objetivo.** Caracterizar los aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* de individuos positivos para HIV recibidos en el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio observacional descriptivo. Se estudiaron 63 aislamientos de individuos con tuberculosis e infección por HIV mediante pruebas de identificación, sensibilidad y genotipificación.

**Resultados.** Dos de los casos nuevos (3,3 %) eran resistentes a rifampicina y uno (1,6 %) a isoniacida, en tanto que tres (5,0 %) lo eran a la isoniacida combinada con estreptomycin. Los casos previamente tratados fueron sensibles. No se evidenció multirresistencia. Hubo 20 (31,7 %) aislamientos de la familia genética LAM9, 8 (12,7 %) de la H1 y 7 (11,1 %) de la T1. Diecinueve aislamientos correspondieron a patrones huérfanos. Se observó un único agrupamiento entre los aislamientos analizados. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la resistencia a fármacos y las familias genéticas.

**Conclusión.** La resistencia encontrada demostró la transmisión de cepas resistentes a rifampicina e isoniacida. Las familias genéticas LAM9, T1 y H1 corresponden a las descritas en la población general. No se evidenció transmisión activa en los aislamientos estudiados. Se necesitan estudios más completos para conocer la situación real de la infección concomitante de tuberculosis y HIV en el país.

**Palabras clave:** *Mycobacterium tuberculosis*/transmisión; HIV; coinfección; epidemiología molecular; resistencia a medicamentos.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3112>

### Characterization of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from HIV positive individuals in Colombia, 2012

**Introduction:** One third of the increase in tuberculosis cases is attributed to the spread of HIV. In 2012, 1,397 HIV-associated tuberculosis cases were reported in Colombia, i.e., 11.8% of the total cases. Molecular epidemiology tools help to understand the transmission of tuberculosis.

**Objective:** To characterize clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* derived from HIV-infected individuals, received at the *Laboratorio Nacional de Referencia* in the *Instituto Nacional de Salud*.

**Materials and methods:** This was a descriptive observational study. We analyzed 63 isolates of *M. tuberculosis* from HIV-infected individuals. Identification, drug susceptibility and genotyping assays were performed.

**Results:** Of the new cases evaluated, three (5.0%) were resistant to isoniazid combined with streptomycin; two (3.3%) to rifampicin, and one (1.6%) to isoniazid. Previously treated cases were sensitive. No multidrug resistance was evident. Among the predominant genotypes, 20 isolates were (31.7%) LAM9, eight (12.7%), H1, and seven (11.1%), T1. Nineteen isolates corresponded to orphan patterns. One single grouping was observed among tested isolates. We found no statistically significant difference between the proportions of the antituberculous drug resistance and genotypes.

#### Contribución de los autores:

Gloria Puerto, Claudia Llerena y Claudia Castro: concepción y diseño de los experimentos

Alba Ricardo, Angie Zabaleta y Claudia Castro: desarrollo de los experimentos

Angie Zabaleta y Claudia Castro: análisis de los datos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

**Conclusion:** We found resistant isolates to the most powerful drugs, rifampicin and isoniazid, among new cases, showing the transmission of resistant strains. Genetic families of *M. tuberculosis* LAM9, T1 and H1 correspond to those described in the general population. We detected no active transmission among studied isolates. More comprehensive studies are needed to assess the real situation of HIV-associated tuberculosis in the country regarding sensitivity and transmission.

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*/transmission; HIV; coinfection; molecular epidemiology; drug resistance.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3112>

La tuberculosis es un problema de salud pública a nivel mundial. Durante el 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó 8,6 millones de casos a nivel mundial, y 1,3 millones de muertes por esta causa (1). Muchos factores se han asociado durante la última década al incremento en el número de casos de la enfermedad, una tercera parte del cual se atribuye a la propagación del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (2). Durante ese año, en el mundo se presentaron 1,1 millones de casos de infección concomitante de tuberculosis y HIV, de los cuales 31.000 se registraron en Latinoamérica.

En el 2012, se diagnosticaron en Colombia 11.990 casos de pacientes con tuberculosis en todas las formas, de los cuales 7.572 (63,2 %) habían solicitado la prueba voluntaria para HIV, y 1.397 (11,8 %) presentaban infección concomitante de tuberculosis y HIV (3).

Desde 2009, el Programa Nacional de Control de Tuberculosis definió los grupos de riesgo de tuberculosis mediante la circular 058, entre ellos, los casos de personas con HIV, cuyo diagnóstico se debe hacer por baciloscopia, cultivo y prueba de sensibilidad a fármacos antituberculosos (4). En el Grupo de Micobacterias de la Dirección de Redes en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud, se reciben los cultivos de casos de tuberculosis provenientes de algunos de los entes territoriales, con el fin de hacer las pruebas de sensibilidad en el marco de las actividades de vigilancia en salud pública.

Además, en el Grupo de Micobacterias, se hacen estudios de epidemiología molecular para conocer la cadena de transmisión de la enfermedad, establecer las causas de las recurrencias y proveer

información para determinar la transmisión activa, evidenciada por la circulación de genotipos y la presencia de agrupamientos, información que contribuye al control de la enfermedad en diferentes poblaciones, especialmente en los grupos de riesgo, como es el caso de pacientes con infección concomitante de tuberculosis y HIV (5-8). En los países en donde la tuberculosis y la infección por HIV son endémicas, es común encontrar casos agrupados en los análisis de epidemiología molecular, lo cual demuestra la expansión epidémica de la tuberculosis asociada al HIV (6,9-10).

Por lo tanto, es importante el desarrollo de estudios que analicen la repercusión de la infección por el HIV en la transmisión y la adquisición de la resistencia a los medicamentos, como parte de las prioridades en investigación cuando los recursos son limitados y dicha infección es prevalente (11). En este contexto, los análisis de transmisión mediante estudios de epidemiología molecular y la vigilancia de la resistencia a los fármacos deben hacerse rutinariamente en este grupo de pacientes.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* de individuos positivos para el HIV, recibidos en el Laboratorio Nacional de Referencia de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud durante el primer semestre de 2012.

## Materiales y métodos

### Tipo de estudio

Se hizo un estudio observacional y descriptivo para caracterizar los aislamientos de casos con infección concomitante de tuberculosis e infección por HIV en Colombia, recibidos en el primer semestre de 2012. En el análisis se tuvieron en cuenta las variables sociodemográficas relacionadas con el paciente, los perfiles de resistencia a fármacos antituberculosos y la genotipificación de los aislamientos.

### Aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis*

Se analizaron 63 aislamientos provenientes de individuos con tuberculosis e infección por HIV, registrados en el formato único de vigilancia de

Correspondencia:

Claudia Marcela Castro, Laboratorio de Micobacterias, Instituto Nacional de Salud, Avenida calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1244 o 1246

[ccastro@ins.gov.co](mailto:ccastro@ins.gov.co)

Recibido: 27/10/15; aceptado: 09/06/16

micobacterias en la categoría de “persona que convive con el HIV”, y con resultado en la prueba de sensibilidad a los fármacos antituberculosos. Dichos registros fueron remitidos al Instituto Nacional de Salud por los laboratorios de salud pública de aquellos entes territoriales que no cuentan con estas pruebas.

### **Pruebas de laboratorio**

**Identificación de especie y sensibilidad.** Los aislamientos se sometieron a identificación fenotípica, mediante pruebas bioquímicas y enzimáticas que detectan el complejo *M. tuberculosis* (12). Para determinar los patrones de sensibilidad, se utilizó la técnica semiautomatizada en medio líquido Bactec MGIT™, en la cual se emplea un tubo que contiene caldo Middlebrook 7H9 y un compuesto de rutenio fluorescente incluido en silicona, y se fundamenta en la acción de consumo de oxígeno por parte de la micobacteria, lo cual libera la fluorescencia del compuesto y permite detectar su viabilidad al ser expuesta a los fármacos para determinar si es sensible o resistente. Las concentraciones críticas usadas fueron las siguientes: estreptomina, 1 y 4 µg/ml; isoniacida, 0,1 y 0,4 µg/ml; rifampicina, 1 µg/ml, y etambutol, 1 y 7,5 µg/ml. En la interpretación de los resultados se utilizó el programa Epicenter (13,14).

La calidad de las pruebas de sensibilidad a los fármacos fue evaluada por el Instituto de Salud Pública de Chile, el cual lleva a cabo un control anual a los laboratorios nacionales en el marco del programa mundial de vigilancia de la resistencia.

### **Tipificación mediante spoligotyping y Mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number (MIRU-VNTR)**

La extracción de ADN y la aplicación de la metodología de *spoligotyping* se hicieron según lo expuesto por Kamerbeek, et al., en 1997. La tipificación con oligonucleótidos espaciadores (*spoligotyping*) es una técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), útil para la discriminación de especies del complejo *M. tuberculosis* mediante la detección de espaciadores entre las repeticiones directas del locus DR (15). La metodología de MIRU-VNTR de 24 loci se hizo de forma manual mediante la amplificación por PCR de los 24 minisatélites y la visualización de los amplificados en geles de agarosa, según el protocolo descrito por Supply, et al., en 2006 (16). Desde 2013, el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud garantiza la calidad de las pruebas de MIRU-

VNTR mediante el control de calidad del Laboratorio de Referencia para Tuberculosis del Ministerio de Salud, Bienestar y Deportes de Holanda.

### **Análisis de agrupamientos**

El agrupamiento se definió como dos o más aislamientos de *M. tuberculosis* con un patrón idéntico determinado mediante *spoligotyping* y MIRU.

### **Análisis molecular y designación de familias genéticas**

Los patrones obtenidos por *spoligotyping* se compararon con la base de datos internacional SITVIT del Instituto Pasteur de Guadalupe ([http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT\\_ONLINE](http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE)), y se designaron las familias genéticas y los códigos SIT (*Spoligo International Type*) (17).

La comparación de los resultados obtenidos mediante las dos metodologías, así como la generación de los dendrogramas y los árboles de expansión mínima (*Minimum Spanning Tree*, MST), se hicieron con el programa VNTR Plus. Para la construcción de los árboles MST, se usó el algoritmo *neighbor-joining* (18).

Los patrones de *spoligotyping* que no se encontraron en la base de datos SITVIT (patrones huérfanos), se analizaron mediante la herramienta *SpotClust* ([http://tbinsight.cs.rpi.edu/run\\_spotclust.html](http://tbinsight.cs.rpi.edu/run_spotclust.html) SPOTCLUST), la cual hace una predicción de las familias genéticas de *M. tuberculosis* mediante el uso de un modelo derivado de la base de datos SpolDB3, con base en el análisis de los algoritmos de evolución de los patrones de *spoligotyping* (19).

### **Análisis de los datos**

Se utilizaron tres fuentes de información. La primera correspondió al formato único de vigilancia de las micobacterias, documento establecido por el Instituto Nacional de Salud para el procesamiento de las pruebas de sensibilidad, el cual se recibe con cada cultivo y contiene información sobre el sexo y la edad de los pacientes, la forma clínica de la enfermedad, el ente territorial remitente y la condición de ingreso al programa de cada paciente (nuevo o previamente tratado), datos que deben ser recopilados por el personal de salud en la institución donde se los atiende. La segunda fueron los resultados de las pruebas de sensibilidad para la detección de los patrones de resistencia a los fármacos, y la tercera, la base de datos de los resultados de la genotipificación específica para este estudio.

Se describieron las variables sociodemográficas de los casos y su distribución geográfica empleando el programa EPI Info™, versión 7.1.3.

Se calculó la proporción de resistencia a fármacos, teniendo en cuenta la condición de ingreso de la persona al programa de tuberculosis (nuevo o previamente tratado), y los porcentajes de aislamientos sensibles y resistentes en cada una de las familias genéticas identificadas, con un intervalo de confianza de 95 %. Las diferencias entre las proporciones de resistencia a fármacos según familias genéticas se establecieron mediante la prueba exacta de Fisher, tomando como referencia la familia genética de *M. tuberculosis* con mayor número de aislamientos resistentes en el estudio, con un intervalo de confianza de 95 %, y una significación estadística de  $p < 0,05$ .

## Resultados

El análisis de las variables sociodemográficas evidenció que 37 (58,7 %) casos correspondían a pacientes de sexo masculino; el rango de edad osciló entre 19 y 59 años, con una mediana de 32. En 51 (80,9 %) casos se presentaron formas pulmonares y en 60 (95,2 %) la condición de ingreso al programa correspondió a pacientes nuevos, es decir, sin antecedente de tratamiento antituberculoso. Los casos analizados provenían de diez entes territoriales, principalmente del departamento del Valle del Cauca, con 24 (38,1 %) y Bogotá, con 13 (20,6 %) (cuadro 1).

Todos los aislamientos de los casos en estudio pertenecían al complejo *M. tuberculosis*, según las pruebas fenotípicas utilizadas. Al evaluar los patrones de resistencia en los 60 aislamientos provenientes de casos nuevos, se encontró que 54 (90 %) eran sensibles, dos (3,3 %) presentaron resistencia solo a la rifampicina, uno (1,6 %), resistencia a isoniacida, y tres (5 %), resistencia combinada a la estreptomocina y la isoniacida. La resistencia global para este grupo fue de 10 %. Los tres aislamientos (4,7 %) de casos previamente tratados fueron sensibles.

Los aislamientos de los 63 casos pertenecían a 11 familias genéticas de *M. tuberculosis* (cuadro 2). Diecinueve (30,1 %) de los resultados obtenidos por *spoligotyping* no mostraron similitud con los patrones de la base de datos SITVIT, y se consideraron patrones huérfanos. Entre las familias descritas en la base de datos mundial, se encontraron la LAM9, la H1 y la T1, con una frecuencia de 20 (31,7 %), ocho (12,7 %) y siete (11,1 %) casos, respectivamente. Los códigos SIT más frecuentes fueron el 42 (LAM9), el 53 (T1) y el 62 (H1).

Mediante el uso de *SpotClust* para la predicción de las familias genéticas de *M. tuberculosis*, los 19 casos huérfanos se clasificaron como sigue: ocho pertenecían a la familia H1, cinco, a LAM9, y dos aislamientos, a cada una de las familias T1, S y LAM2 (cuadro 3). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de resistencia a los fármacos entre las familias genéticas de *M. tuberculosis* encontradas al tomar como referencia el patrón huérfano (cuadro 2). El análisis de los aislamientos por *spoligotyping* y MIRU-VNTR en el MST evidenció una gran prevalencia de la familia LAM (figura 1).

Al analizar los aislamientos con *spoligotyping* y MIRU-VNTR, solo se halló el agrupamiento de dos de ellos correspondientes a pacientes de Bogotá y Bucaramanga; uno de dichos pacientes tenía tuberculosis pulmonar y, el otro, tuberculosis extrapulmonar, y no fue posible establecer ningún vínculo epidemiológico entre ellos (figura 2).

## Discusión

El análisis de los datos demográficos de sexo, edad y tipo de tuberculosis de los pacientes incluidos en el estudio arrojó proporciones similares a lo reportado por el Sivigila en el mismo año (3), a pesar de que el número de casos analizados en este trabajo fue mucho menor al de la notificación.

Los entes territoriales que más casos aportaron según la notificación del Sivigila fueron Antioquia, Valle del Cauca y Bogotá, con 44,3 %, en tanto que en este trabajo el mayor número de casos provenía del Valle del Cauca y Bogotá; no obstante, debe señalarse que la información de Antioquia no se analizó porque en este departamento se cuenta

**Cuadro 1.** Procedencia de los 63 casos de infección concomitante de tuberculosis y HIV incluidos en el estudio

Ente territorial	Número de casos	%
Bogotá, D.C.	13	20,63
Caldas	1	1,59
Cundinamarca	3	4,76
La Guajira	1	1,59
Meta	2	3,17
Norte de Santander	2	3,17
Quindío	3	4,76
Risaralda	7	11,11
Santander	7	11,11
Valle del Cauca	24	38,10
Total	63	100

**Cuadro 2.** Frecuencia de las familias de complejo *M. tuberculosis* encontradas en 63 aislamientos de personas con infección concomitante de tuberculosis y HIV, y análisis de las diferencias entre las proporciones de resistencia a fármacos según familias genéticas

Familia	Aislamientos (n=63)	%	IC <sub>95%</sub>	Resistente (n=6)		Sensible (n=58)		p*
				n	%	n	%	
LAM9	20	31,75	19,46-44,03	1	5,00	19	95,00	0,28
Huérfano	19	30,16	18,03-42,28	3	15,79	16	84,21	ref
H1	8	12,70	3,68-21,71	1	12,50	7	87,50	0,66
T1	7	11,11	2,56-19,66	0	0	7	100	0,37
LAM5	2	3,17	0,39-11,00	0	0	2	100	0,72
LAM5-LAM6	2	3,17	0,39-11,00	0	0	2	100	0,72
H3	1	1,59	0,04- 8,53	0	0	1	100	0,85
LAM2	1	1,59	0,04- 8,53	0	0	1	100	0,85
LAM3	1	1,59	0,04- 8,53	0	0	1	100	0,85
U(LAM3)	1	1,59	0,04- 8,53	1	100	0	0	0,20
X3	1	1,59	0,04- 8,53	0	0	1	100	0,85

\*Prueba exacta de Fisher

**Cuadro 3.** Resultados del análisis de los 19 patrones huérfanos de aislamientos de *M. tuberculosis* procedentes de pacientes con infección concomitante de tuberculosis y HIV mediante la herramienta *SpotClust*

Código	Espoligotipos	Familia	Probabilidad
175	777771074000420	H1	0,999
403	777767774020631	H1	0,999
107	777767607760671	LAM9	0,999
365	777767605760771	LAM9	0,999
348	777747634000621	H1	0,999
368	777747634000621	H1	0,999
366	777367630740671	T1	0,999
457	777347676760660	T1	0,999
383	777347607740671	LAM9	0,999
315	757737607760771	LAM9	0,999
30	557247434000621	H1	0,999
179	517247606740661	LAM9	0,999
326	777777776020731	H1	0,992
590	777777776020731	H1	0,992
580	777737776020731	H1	0,992
280	677737607760631	LAM2	0,817
333	677737605760771	LAM2	0,817
311	77637777740731	S	0,810
596	77637777740731	S	0,810

con un laboratorio de salud pública que lleva a cabo la vigilancia de la resistencia y no envía datos al Instituto Nacional de Salud (3).

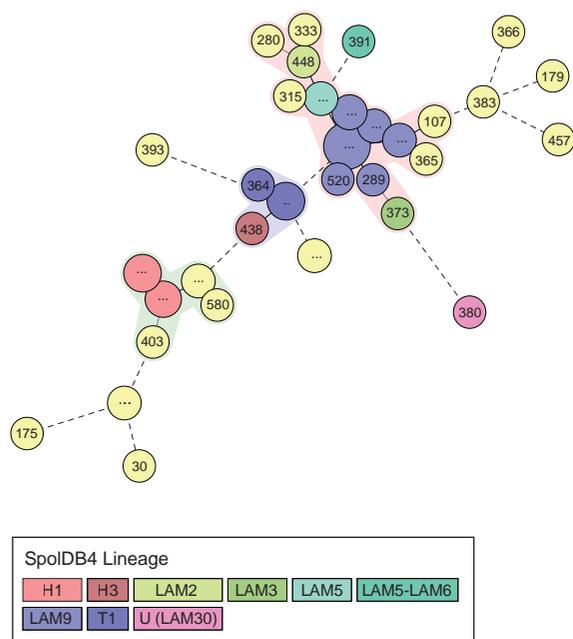
Son varias las razones por las cuales se documenta la presencia de resistencia en personas con HIV; se ha demostrado su mayor riesgo de desarrollar enfermedades de tipo gastrointestinal que reducen los niveles séricos de la rifampicina; asimismo, en individuos con acetilación rápida, la concentración de isoniacida, etambutol y pirazinamida es variable. Estos factores contribuyen a generar resistencia y están presentes en alrededor de 5,0 % de los

casos de infección concomitante de tuberculosis y HIV (20). En este trabajo la resistencia global en los casos nuevos fue de 10 %, principalmente a rifampicina e isoniacida, es decir, a los dos medicamentos más eficaces en el esquema de tratamiento de la tuberculosis. En el grupo de los pacientes previamente tratados no se evidenció resistencia, lo que puede deberse al número de cultivos analizados.

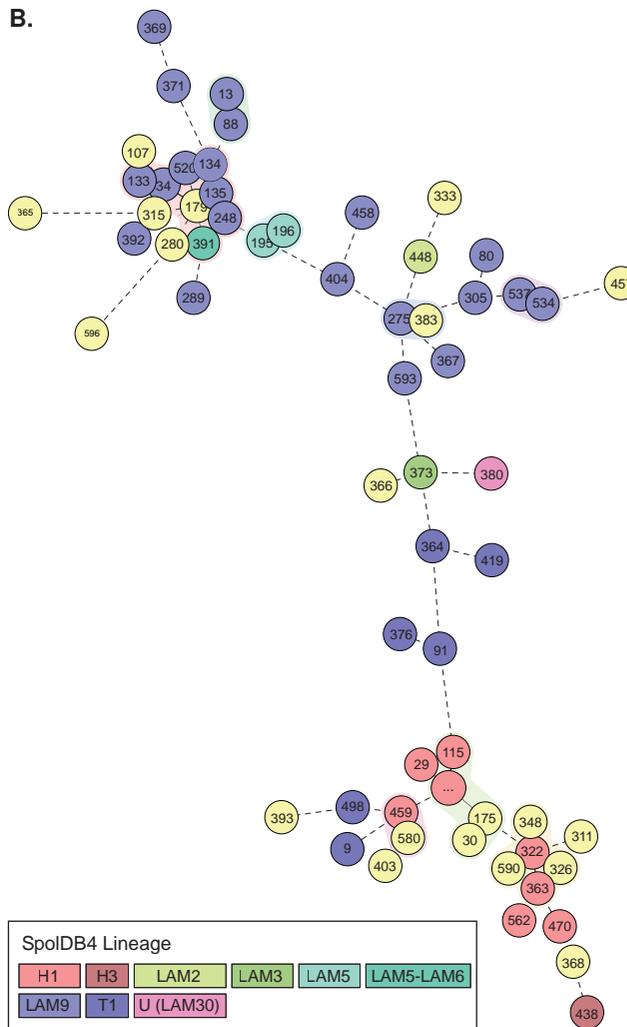
En un estudio en un hospital de tercer nivel de atención en Camboya, se evaluó la sensibilidad a los fármacos antituberculosos en 236 personas con infección concomitante de tuberculosis y HIV, y se encontró una resistencia global en casos nuevos y previamente tratados de 29,4 % y 63,2 %, respectivamente. En los casos nuevos la resistencia a isoniacida fue de 13,9 % y a la rifampicina fue de 1,6 %, con una multirresistencia de 3,7 %. En los pacientes previamente tratados, la resistencia a la isoniacida y la rifampicina fue la misma (7,9 %), y se presentó multirresistencia en 28,9 % de los casos. Las diferencias entre los resultados obtenidos podrían deberse al comportamiento epidemiológico de la enfermedad en ambos países y a las diferencias en el tamaño de la muestra en cada uno de los trabajos (21).

En España, en una cohorte de pacientes con HIV, se encontró que el 5 % de los pacientes había desarrollado tuberculosis; a 175 se les hizo prueba de sensibilidad y se detectó una resistencia global en pacientes nuevos y previamente tratados de 11,1 % y 36,4 %, respectivamente. En los casos nuevos, la resistencia a isoniacida fue de 5,9 % y a rifampicina fue de 1,5 %, y hubo un caso de tuberculosis multirresistente. En pacientes previamente

A.



B.



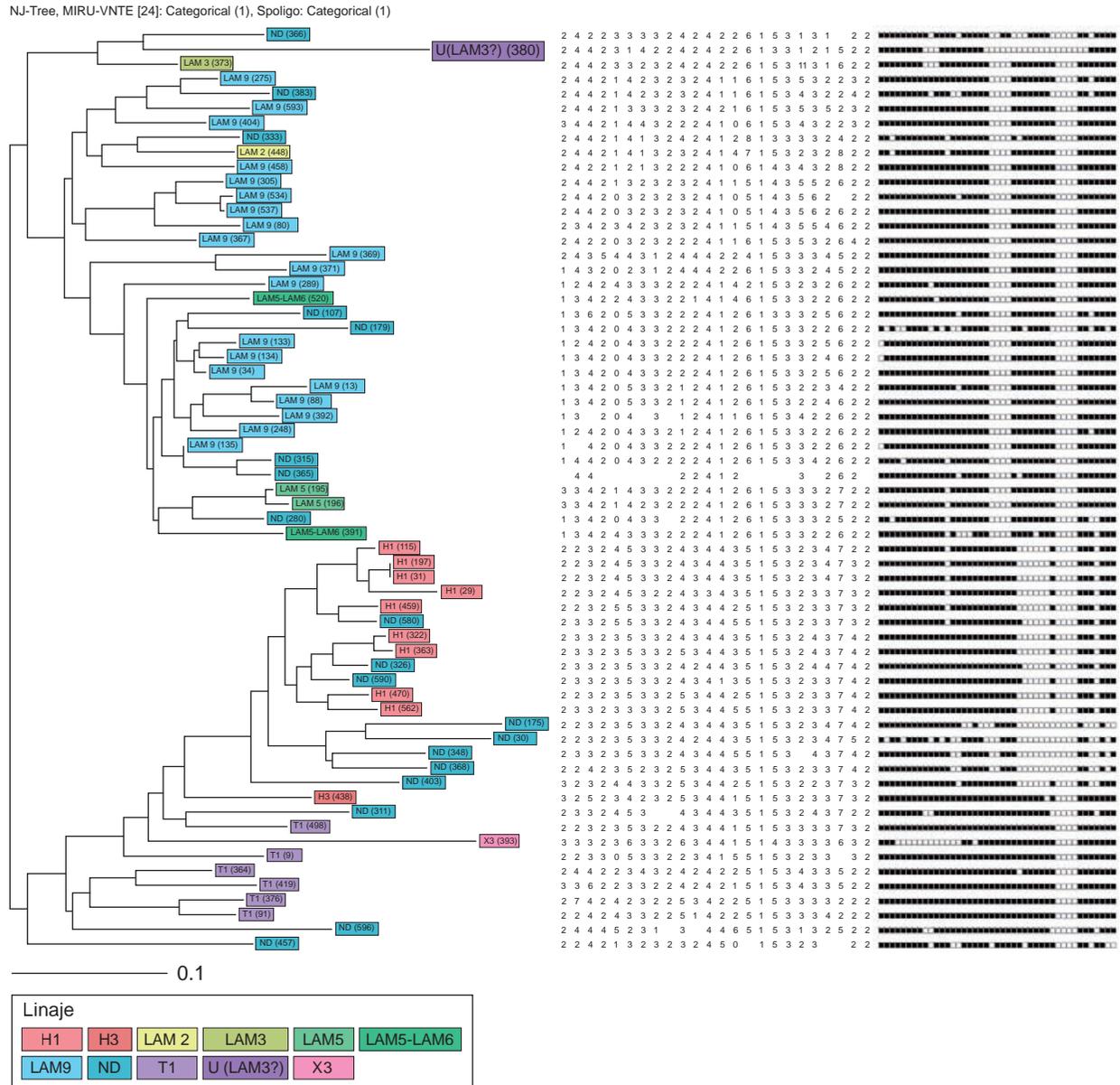
**Figura 1.** Árbol de expansión mínima (*Minimum Spanning Tree*, MST) que ilustra la relación entre los 63 genotipos identificados en aislamientos de pacientes con infección concomitante de tuberculosis y HIV. El MST ilustra la relación entre los 63 genotipos identificados en el estudio. **A.** Árbol construido con *spoligotyping*. **B.** Árbol construido con MIRU-VNTR. El árbol filogenético conecta cada genotipo con base en los cambios necesarios para ir de un alelo a otro. La longitud entre las ramas representa la distancia entre los genotipos, y el color diferencia las familias genéticas de *M. tuberculosis* descritas. Los genotipos sin código representan los patrones huérfanos.

tratados, la resistencia a isoniacida fue de 27,3 % y a rifampicina fue de 9,1 %, y se presentó un caso multirresistente. Los datos correspondientes a pacientes nuevos son similares a los del presente trabajo, y en los previamente tratados las diferencias se explicarían por el número de casos evaluado en cada estudio (22).

En un estudio en Perú para establecer la resistencia a los medicamentos antituberculosos en 523 personas con tuberculosis e infección por el HIV, se encontró una resistencia global de 55,8 % y 93 %, y una multirresistencia de 32,1 % y 74,8 % en casos nuevos y previamente tratados, respectivamente.

En ese país se ha registrado una alta prevalencia de la resistencia a fármacos, razón por la cual no hay similitud entre los datos reportados en ese estudio y el presente (23).

En dos estudios en personas con tuberculosis e infección por el HIV en Colombia, se evaluó la sensibilidad a los fármacos teniendo en cuenta el antecedente de tratamiento. Uno de dichos estudios se hizo en el Valle del Cauca en 25 pacientes, y en él se encontró resistencia a isoniacida en 28,5 % de los casos nuevos, en tanto que no se encontró resistencia a la rifampicina ni multirresistencia; en pacientes previamente tratados, se detectó



**Figura 2.** Dendrograma de los agrupamientos de los 63 aislamientos de pacientes con infección concomitante de tuberculosis y HIV obtenido mediante las metodologías de *spoligotyping* y MIRU-VNTR. Se observa un agrupamiento correspondiente a dos pacientes de Bogotá y Bucaramanga con idéntico genotipo, uno con tuberculosis pulmonar y el otro con tuberculosis extrapulmonar.

resistencia a la isoniacida (50 %) y a la rifampicina (25 %). En ese trabajo se analizó el 37 % de los casos de infección concomitante de tuberculosis y HIV que se presentaron a lo largo de cuatro años en una institución de tercer nivel de atención, por lo cual es posible que la mayoría provinieran de zonas con alta prevalencia de resistencia, como Cali y Buenaventura; además, el número de muestras analizadas fue inferior, razón por la cual los porcentajes de resistencia evidenciados fueron superiores a los informados en el presente trabajo (24).

El segundo estudio se hizo en Medellín, en 22 personas positivas para HIV, en las cuales la resistencia global fue de 18,2 %; se detectó resistencia a rifampicina en un paciente y multirresistencia en otro (4,5 %), ambos correspondientes a casos nuevos. Medellín es uno de los municipios con altas tasas de tuberculosis resistente, por lo cual los porcentajes obtenidos en ese estudio fueron superiores a los de este, en el cual, como ya se mencionó, no se incluyeron aislamientos de Antioquia (25).

Las familias genéticas encontradas correspondieron a las de mayor prevalencia en casos de tuberculosis en la población general del país (26-28). Además, se trata de familias genéticas de *M. tuberculosis* prevalentes en los demás países de Latinoamérica, con frecuencias muy similares a las reportadas en Perú, Argentina y, recientemente, Honduras (29-31). Puerto, *et al.*, describieron las familias genéticas prevalentes en 741 aislamientos de *M. tuberculosis* circulantes en Colombia entre 1999 y 2012, y al igual que en este estudio, las familias LAM9, los genotipos huérfanos, y las familias H1 y T1 presentaron las más altas frecuencias, con 27, 17, 11,9 y 6,9 %, respectivamente (27). Asimismo, Realpe, *et al.*, en Medellín, Cali y poblaciones del Cauca, y Cerezo, *et al.*, en Bogotá, encontraron que las familias genéticas de *M. tuberculosis* más frecuentes correspondían a LAM9, H1 y T1 (más del 70 % de las familias encontradas) (26,28); sin embargo, a diferencia de los resultados de Puerto, *et al.*, y los obtenidos en este estudio, el número de patrones huérfanos apenas representó un porcentaje de 4,8 y 3,9, respectivamente.

La identificación de aislamientos con patrones huérfanos utilizando *SpotClust* evidenció su pertenencia a las familias de *M. tuberculosis* descritas como prevalentes en Colombia.

En el país se han hecho varios estudios de caracterización molecular de casos de tuberculosis, en los que se ha evidenciado la asociación de la infección concomitante de tuberculosis y HIV con la transmisión reciente y los patrones agrupados (32), así como una asociación significativa entre aislamientos y familias genéticas específicas (26). En este estudio no se observó una asociación entre los aislamientos o las familias genéticas descritas, probablemente debido a que los aislamientos provenían de varios departamentos del país, lo cual refleja un panorama general de la circulación de genotipos y no de la transmisión confinada a una sola región. La observación de patrones únicos no agrupados puede deberse a la reactivación de infecciones latentes, o, según los hallazgos de estudios similares sobre pacientes con tuberculosis con HIV en regiones de alta incidencia, corresponderían a infecciones recientes adquiridas después de la infección por HIV (5,33).

En el estudio de Realpe, *et al.*, en el cual se genotipificaron siete aislamientos de pacientes con tuberculosis e infección por HIV, se encontró que las familias H1, código SIT 727, y T1, código SIT 53, tenían una mayor prevalencia, y en los 407

aislamientos de pacientes negativos para el HIV se encontró una asociación significativa del SIT 45, perteneciente a la familia H1, con multirresistencia (26). En este estudio no se encontró relación significativa entre los genotipos y la presencia de resistencia a los fármacos.

En China, Liu, *et al.*, analizaron 70 aislamientos de personas con HIV y establecieron que los genotipos de *M. tuberculosis* circulantes en la población en general eran los mismos que en personas con tuberculosis e infección por HIV; además, encontraron una tasa de prevalencia de casos de tuberculosis extremadamente resistente mayor en estos individuos que en la población general (33).

Los casos analizados se recibieron en el Instituto Nacional de Salud durante un periodo de seis meses, y no se consideró la información sobre la notificación de casos de infección concomitante de tuberculosis y HIV en ese mismo periodo; sin embargo, al revisar todos los casos con infección concomitante en el 2012, se encontró que los 63 analizados correspondían a 4,5 % del total (63/1.397). Este bajo porcentaje se debe a que Antioquia y Atlántico tienen la capacidad de hacer las pruebas de sensibilidad a fármacos y no envían los aislamientos al Instituto; por otra parte, ante la baja carga bacilar de las muestras procedentes de pacientes con infección concomitante de tuberculosis y HIV, no siempre se logra la comprobación bacteriológica y el diagnóstico se hace con base en el criterio clínico o por nexo epidemiológico. Algunos estudios indican que el porcentaje de casos de tuberculosis en personas con HIV que acceden a un diagnóstico por pruebas de laboratorio es de 65 % (22). Otra de las causas podría ser que, a pesar de contar con un lineamiento nacional, el médico tratante no solicita las pruebas de sensibilidad, lo cual evidencia debilidades en la vigilancia de la resistencia en este grupo de pacientes. Las razones mencionadas fueron limitaciones del estudio, por lo tanto, no se puede excluir la posibilidad de transmisión activa en estos pacientes.

La selección de los casos también representó una limitación, ya que la fuente primaria de información fueron los formatos únicos que se emplean para remitir los cultivos al Laboratorio Nacional de Referencia, en los cuales se indica que la muestra proviene de un paciente con HIV, y es posible que durante el periodo de estudio llegaran más cultivos de personas con esta condición, pero, al no estar registradas en este formato, no fueron incluidos en el trabajo.

Los resultados de este estudio evidencian la necesidad de fortalecer las actividades de vigilancia de la tuberculosis en personas con HIV. Se requieren estudios más completos que permitan evaluar una proporción representativa de aislamientos durante un mayor periodo, con la participación de otros grupos de investigación del país y con una supervisión de los datos registrados en los formatos únicos, lo cual permitiría conocer la situación real de la dinámica de transmisión de la tuberculosis en pacientes con HIV en el país para, así, proponer estrategias de intervención a los programas nacionales de tuberculosis y de HIV.

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses.

### Financiación

Este proyecto fue financiado por el Instituto Nacional de Salud de Colombia.

### Referencias

1. **World Health Organization.** Global tuberculosis control: WHO report 2013. Geneva: WHO; 2013.
2. **Organización Panamericana de la Salud.** Coinfección TB-HIV. Guía clínica. Washington, D.C.: OPS; 2008.
3. **Instituto Nacional de Salud.** Informe del evento tuberculosis hasta el periodo epidemiológico 13 del año 2012. Fecha de consulta: 28 de julio de 2014. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiologico/TUBERCULOSIS%202012.pdf>.
4. **Ministerio de la Protección Social.** Circular externa 058 de 2009. Lineamientos para el manejo programático de tuberculosis y lepra en Colombia. Bogotá, D.C.: Ministerio de la Protección Social; 2009.
5. **Fenner L, Egger M, Bodmer T, Furrer H, Ballif M, Battegay M, et al.** HIV infection disrupts the sympatric host-pathogen relationship in human tuberculosis. *PLoS Genet.* 2013;9:e1003318. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1003318>
6. **Adams LV, Kreiswirth B, Albert R, Soini H, Mtel L, Matee M, et al.** Molecular epidemiology of HIV-associated tuberculosis in Dar es Salaam, Tanzania: Strain predominance, clustering and polyclonal disease. *J Clin Microbiol.* 2013;50:2645-50. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00624-12>
7. **Úriz J, Repáraz J, Castiello J, Sola J.** Tuberculosis en pacientes infectados por el VIH. *An Sist Sanit Navar.* 2007;30(Suppl.2):S131-42.
8. **Bruchfeld J, Correia-Neves M, Källenius G.** Tuberculosis and HIV coinfection. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015; 5:a017871. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a017871>
9. **Houben RM, Glynn JR, Mallard K, Sichali L, Malema S, Fine PE, et al.** Human immunodeficiency virus increases the risk of tuberculosis due to recent re-infection in individuals with latent infection. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2010;14:909-15.
10. **Middelkoop K, Mathema B, Myer L, Shashkina E, Whitelaw A, Gilla Kaplan G, et al.** Transmission of tuberculosis in a South African community with a high prevalence of HIV infection. *J Infect Dis.* 2015;211:53-61. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiu403>
11. **Organización Mundial de la Salud.** Cuestiones prioritarias en materia de investigación sobre la tuberculosis y la infección por el VIH en entornos de recursos limitados donde la infección por el VIH es prevalente. Ginebra: OMS; 2011.
12. **Instituto Nacional de Salud.** Diagnóstico bacteriológico de tuberculosis y micobacteriosis. Bogotá, D.C.: INS; 2012.
13. **Becton Dickinson.** Manual técnico de MGIT 960® para evaluación de resistencia a fármacos antituberculosos. Heidelberg: Becton Dickinson; 2009.
14. **Springer B, Lucke K, Calligaris-Maibach R, Ritter C, Böttger E.** Quantitative drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by use of MGIT 960 and EpiCenter instrumentation. *J Clin Microbiol.* 2009;47:1773-1780. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02501-08>
15. **Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, et al.** Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol.* 1997;35: 907-14.
16. **Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso-Oelemann M, Rusch-Gerdes S, Willery E, et al.** Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 2006;44:4498-510. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01392-06>
17. **Demay C, Liens B, Burguière T, Hill V, Couvin D, Millet J, et al.** SITVITWEB - A publicly available international multi-marker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol.* 2012;12:755-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2012.02.004>
18. **Allix-Beguec C, Harmsen D, Weniger T, Supply P, Niemann S.** Evaluation and strategy for use of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2692-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00540-08>
19. **Vitol I, Driscoll J, Kreiswirth B, Kurepina N, Bennett KP.** Identifying *Mycobacterium tuberculosis* complex strain families using spoligotypes. *Infect Genet Evol.* 2006;6:491-504. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2006.03.003>
20. **Matteelli A, D'Arcy M, Sotgiu G, Centis R, Battista G.** Multidrug- and extensively drug-resistant TB in persons living with HIV. *Expert Rev Respir Med.* 2009;3:245-54. <http://dx.doi.org/10.1586/ers.09.15>
21. **Walls G, Bulifon S, Breyse S, Daneth T, Bonnet M, Hurtado N, et al.** Drug-resistant tuberculosis in HIV-infected patients in a national referral hospital, Phnom Penh, Cambodia. *Glob Health Action.* 2015;8:25964. <http://dx.doi.org/10.3402/gha.v8.25964>
22. **Monge S, Díez M, Pulido F, Iribarren J, Campins A, Arazo P, et al.** Tuberculosis in a cohort of HIV-positive patients: Epidemiology, clinical practice and treatment outcomes. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014;8:700-8. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu674>

23. **Asencios L, Vásquez L, Leo E, Quispe N, Huaroto L, Cabezas C.** Niveles de resistencia a drogas antituberculosas en pacientes con coinfección VIH/tuberculosis, Lima, 1998-2001. *Rev Per Med Exper Salud Pública.* 2006;23:98-103. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2006.232.1068>
24. **De Paz D, Potes L, Quiñónez E, Martínez L, Cepeda M, Guarín N, et al.** Resistencia a fármacos antituberculosos en pacientes coinfectados con tuberculosis y virus de la inmunodeficiencia humana, en un hospital de referencia de 2007 a 2010 en Cali (Colombia). *Infectio.* 2013;16:161-5.
25. **González J, Estrada S, Álvarez H.** Resistencia primaria a los medicamentos anti tuberculosos en pacientes VIH positivos y pacientes VIH negativos con tuberculosis en Medellín, Colombia. *Infectio.* 2001;5:223-34.
26. **Realpe T, Correa N, Rozo JC, Ferro BE, Gómez V, Zapata E, et al.** Population structure among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from pulmonary tuberculosis patients in Colombia. *PLoS ONE.* 2014;9:e93848. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0093848>
27. **Puerto G, Erazo L, Wintaco M, Castro C, Ribón W, Guerrero M.** *Mycobacterium tuberculosis* genotypes determined by spoligotyping to be circulating in Colombia between 1999 and 2012 and their possible associations with transmission and susceptibility to first-line drugs. *PLoS ONE.* 2015;10:e0124308. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0124308>
28. **Cerezo I, Jiménez Y, Hernández J, Zozio T, Murcia M, Rastogi N.** A first insight on the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* complex as studied by spoligotyping and MIRU-VNTRs in Bogotá, Colombia. *Infect Genet Evol.* 2012;12:657-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.07.006>
29. **Rosales S, Pineda-García L, Ghebremichael S, Rastogi N, Hoffner S.** Molecular diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients with tuberculosis in Honduras. *BMC Microbiol.* 2010;10:208. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-10-208>
30. **Gonzalo X, Ambroggi M, Córdova E, Brown T, Poggi S, Drobniewski F.** Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:528-31. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1703.100394>
31. **Taype CA, Agapito JC, Accinelli RA, Espinoza JR, Godreuil S, Goodman SJ, et al.** Genetic diversity, population structure and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Perú. *Infect Genet Evol.* 2012;12:577-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2012.02.002>
32. **Hernández J, Murcia M, de la Hoz H.** Epidemiología molecular de la tuberculosis en Bogotá en aislamientos clínicos obtenidos durante 11 años. *Rev Salud Pública.* 2008;10:126-36. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642008000100012>
33. **Liu J, Wang HZ, Lian LL, Yu YH, Zhao XQ, Guo CP, et al.** Molecular characteristics and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients co-infected with human immunodeficiency virus in Beijing, China. *Biomed Environ Sci.* 2015;28:222-6. <http://dx.doi.org/10.3967/bes2015.030>